

Ferric reductase (FCR) activity assay Kit

高铁还原酶（FCR）活性测定试剂盒说明书

货号：G0147W | 方法：微板法 | 规格：96 样

一、产品简介：

高铁还原酶（Ferric reductase, FCR）催化高铁螯合物中的 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ，在部分物种铁元素的吸收中有重要作用。

高铁还原酶（FCR）可以催化 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ， Fe^{2+} 再与亚铁嗪（ferrozine）生成紫红色化合物，该有色物质在 562nm 处有特征吸收峰，通过测定在 562nm 下的增加速率即可得出该酶活大小。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体×2 支	4℃保存	用前甩几下或离心使粉剂落入底部，分别加 0.55mL 蒸馏水溶解备用。用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融，三天内用完。
试剂二	液体×1 支	4℃保存	
试剂三	粉体×1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 1.2mL 蒸馏水溶解备用。
试剂四	液体 13mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	液体×1 支	4℃保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4℃保存	

三、所需仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、水浴锅或恒温培养箱、低温离心机、蒸馏水。

四、高铁还原酶（FCR）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm 离心 5min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（ 10^4 ）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样本：澄清的液体可直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min，设定波长到 562nm。

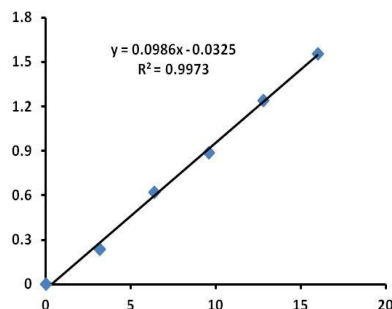
② 所有试剂解冻至室温（25℃），在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	40
试剂一	10
试剂二	10
试剂三	10
试剂四	120
试剂五	10
充分混匀，于波长 562nm 处读取吸光值 A1， 室温（25℃）孵育 30min 后读取 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 0.0986x - 0.0325$ ；x 为标准品摩尔质量(nmoL)，y 为 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟催化生成 1nmol Fe^{2+} 定义为一个酶活单位（U）。

$$FCR (\text{nmol/min/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0325) \div 0.0986] \div (W \times V1 \div V) \div T = 8.5 \times (\Delta A + 0.0325) \div W$$

3、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟催化生成 1nmol Fe^{2+} 定义为一个酶活单位（U）。

$$FCR (\text{nmol/min/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0325) \div 0.0986] \div (V1 \times Cpr) \div T = 8.5 \times (\Delta A + 0.0325) \div Cpr$$

4、按细胞数量计算：

单位定义：每 10^4 个细胞每分钟催化生成 1nmol Fe^{2+} 定义为一个酶活单位（U）。

$$FCR (\text{nmol/min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0325) \div 0.0986] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 8.5 \times (\Delta A + 0.0325) \div 500$$

5、按照液体体积计算：

单位定义：每毫升液体每分钟催化生成 1nmol Fe^{2+} 定义为一个酶活单位（U）。

$$FCR (\text{nmol/min/mL}) = [(\Delta A + 0.0325) \div 0.0986] \div V1 \div T = 8.5 \times (\Delta A + 0.0325) \div Cpr$$

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---加入样本体积，0.04mL；

T---反应时间，30min；

W---样本质量，g；

500---细菌/细胞数量，万；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。